

اثرات ضد دردی عصاره آبی-الکلی برگ گیاه پونه در موش صحرایی

دکتر مختار مختاری^{۱*}، دکتر مهرداد شریعتی^{۲*}، لادن خداپرست^{۳**}

^{*}دانشیار گروه فیزیولوژی - دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، ^{**}استادیار گروه زیست شناسی - دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون،

^{***}کارشناس ارشد علوم جانوری- دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون.

تاریخ دریافت: ۸۷/۴/۱۵ تاریخ تایید: ۸۷/۹/۲۲

چکیده:

زمینه و هدف: عقیده محققین علوم دارویی بر این است که داروهای تسکین دهنده درد به دلیل عوارض جانبی و در بعضی موارد عدم توانایی کافی، مفید واقع نمی شود. لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر ضددردی عصاره آبی - الکلی گیاه پونه درموش صحرایی نر انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار، به ۵ گروه هشت تایی تقسیم و تحت روش تست فرمالین مورد ارزیابی اثر ضد دردی قرار گرفتند. گروه های تجربی به ترتیب عصاره آبی- الکلی برگ گیاه پونه را با دوزهای ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ mg/kg و گروه شاهد فرمالین و آب مقطر را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکرد. دقایق ۵-۰ و ۶۰-۱۶ به ترتیب به عنوان مراحل حاد و مزمن درد در نظر گرفته شد. پس از ثبت پاسخ های رفتاری، میانگین نمره درد با استفاده از آزمون های Tukey

تین گروه های تجربی و کنترل مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: میانگین نمره درد در هر سه گروه تجربی در مرحله حاد تست فرمالین اختلاف معنی داری با گروه شاهد نشان داد ($P<0/05$). در مرحله مزمن این اختلاف فقط در گروه ۱۶۰۰ mg/kg با گروه شاهد مشاهده شد ($P<0/05$).

نتیجه گیری: بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق عصاره آبی- الکلی برگ گیاه پونه، درد مرحله حاد را بیشتر از مرحله مزمن کاهش می دهد، هر چند مطالعات بیشتری در زمینه شناخت ترکیبات ضد دردی موثر این گیاه ضروری به نظر می رسد.

واژه های کلیدی: تست فرمالین، درد، گیاه پونه، موش صحرایی.

مقدمه:

کماکان وجود دارد (۳). درمان با داروهای صنعتی، یک طیف درمانی و درمان با داروهای گیاهی طیف دیگر درمان می باشد (۱). داروهای گیاهی که معمولاً اسانس یا عصاره گیاهان موجود در طبیعت می باشند، از جمله داروهایی هستند که معمولاً مصرف آنها عوارض جانبی شدیدی ایجاد نمی کند و به همین دلیل، امروزه تحقیق در مورد این داروها گسترش یافته است (۴).

پونه (*Menthe pulegium* یا *Pennyroyal*)، گیاهی است از تیره نعناع، علفی پایا و دارای ساقه ای با ظاهر تقریباً استوانه ای به ارتفاع ۱۰ تا ۵۵ سانتی متر و

درد یکی از مشکلات اصلی و اساسی است که همراه با بیماری های مختلف می باشد (۱). ابتلا به بعضی از دردها در دراز مدت اثرات نامطلوب روحی و روانی بر فرد تحمیل می کند. به همین دلیل بشر همیشه به دنبال یافتن راه حلی برای از بین بردن و یا کاهش آن بوده است و تلاش های موثر زیادی در زمینه شناخت مکانیسم های درد و درمان انواع آن صورت گرفته است (۲). داروهای کنونی در دسترس شامل مخدرها و ضد التهاب های غیر استروئیدی هستند و به دلیل عوارض و سایر مشکلات، ممکن است در همه موارد مفید نباشند، بنابراین نیاز به دستیابی به داروی ضد درد مناسب

گیاهان خانواده نعنائیان مثل نعناع، *Menthe piperita* اثرات مسکنی و ضد دردی دارند، به همین منظور تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر ضددردی عصاره آبی-الکلی برگ گیاه پونه (از خانواده نعنائیان) در دو مرحله حاد و مزمن با استفاده از تست فرمالین پرداخته است تا پیش بینی اولیه ای از اثرات ضد دردی این عصاره ارایه شود.

روش بررسی:

در این مطالعه تجربی تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد wistar در محدوده وزنی ۲۲۰-۲۰۰ g از بخش پرورش حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه گردید. حیوانات در ۵ گروه ۸ تایی تا زمان انجام آزمایش در قفس های استاندارد و تحت شرایط یکسان با دمای ۲۲-۲۰ درجه و با چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون نگهداری شدند. آب و غذا به میزان کافی در اختیار آنها قرار می گرفت و به جز در زمان آزمایش به راحتی به آب و غذا دسترسی داشتند و فقط یک بار تحت آزمایش قرار می گرفتند.

روش تهیه عصاره خیسانده آبی-الکلی برگ گیاه پونه:

از اواسط بهار سال ۱۳۸۷ از اطراف شهرستان کازرون بخش های هوایی (برگ) گیاه پونه که مصرف خوراکی دارند، جهت تهیه عصاره جمع آوری شد. پس از تایید گونه آن در شرایط مناسب دور از نور آفتاب، خشک و سپس مقدار ۵۰۰ گرم پودر برگ گیاه پونه به نسبت ۵۰/۵۰ با الکل اتیلیک و آب مقطر به روش خیساندن مخلوط شد و به مدت ۴۸ ساعت نگهداری گردید، طی این مدت بطور متناوب محتویات ظرف تکان داده شد تا عصاره در الکل به طور کامل حل شود. پس از صاف کردن عصاره هیدروالکلی توسط دستگاه سانتریفیوژ با دور ۴۵۰۰ در دقیقه به مدت ۸ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع حاصل در ظرف در باز قرار داده شد تا الکل آن تبخیر شود. شیره سبز رنگ غلیظ بدست

گل های آن بصورت فراهم در کنار برگ ها و در طول محور ساقه ظاهر می شود، رنگ گلی روشن یا مایل به بنفش دارد و میوه اش ۴ فندقه و صاف است (۵). این گیاه به حالت وحشی در دشت های مرطوب و حاشیه جریان های آب غالب نواحی مرکزی، جنوبی و غربی اروپا، جنوب غربی آسیا، شمال آفریقا، حبشه و جزایر قناری می روید. در بیشتر نقاط ایران به ویژه در دامنه های البرز، شمال و شمال شرقی و برخی نقاط دیگر انتشار دارد (۶). از قسمت های مختلف این گیاه بویی قوی استشمام می گردد، اندام های مختلف این گیاه دارای تانن و مواد رزینی و پکتینی، قند و اسانس می باشد (۵) و ترکیبات اصلی گیاه پونه شامل پولگون، منتون، ایزومنتون، پیریتنون، لیمون، دیپانتن (۷) مانترول، هسپریدین، دیوسمین، آزولن است (۵).

در طب سنتی از این گیاه در درمان نفخ، قولنج روده ای، بادشکن و ضداسپاسم استفاده شده است (۸). همچنین از پونه به عنوان دافع حشرات، گندزدا (۹) طعم دهنده برای چاشنی غذا (۷) خلط آور و ضد عفونی کننده (۵) و همچنین به عنوان رایحه در شوینده ها و صابون ها استفاده می شود (۹). به عنوان داروی قاعده آور برای تحریک قاعدگی بکار می رود (۱۰). بررسی ها نشان می دهد عصاره آبی گیاه پونه باعث شل شدن عضلات صاف روده باریک قسمت ایلئوم و دئودنوم می گردد و به نظر می رسد این اثر بر روی دئودنوم بیشتر از ایلئوم می باشد. از طرف دیگر عصاره آبی گیاه پونه باعث کاهش دامنه انقباضات ریتمیک قسمت های یاد شده می گردد (۱۱). از اسانس برگ گیاه پونه در درمان سرطان تخمدان نیز استفاده شده است (۱۲). با توجه به اینکه در مورد داروهای ضد درد اوپیویدی مشکلاتی مانند مقاومت به دارو، وابستگی، سرخوشی، سوء استفاده و غیره وجود دارد، بنابراین به نظر می رسد جهت درمان افراد وابسته به اپیوئیدها، جانشین کردن یک داروی خوراکی طولانی اثر، به جای دارویی که ممکن است مورد سوء مصرف قرار گیرد از اهمیت بالایی برخوردار است. از آنجا که اکثر

عدد ۱، برای هنگامی که حیوان وزن بدن خود را روی پای تزریق شده، تحمل نمی کرد و یا در موقع راه رفتن مشکل داشت.

عدد ۲، برای وقتی که حیوان پنجه دردناک را بلند می کرد و هیچ گونه تماسی با کف محفظه نداشت.

عدد ۳، برای زمانی که حیوان پنجه دردناک را می لیسید یا به شدت تکان می دهد.

تعداد این داده های کمی به صورت ۱۲ بلوک ۵ دقیقه ای شمارش و بر اساس فرمول نمره درد (Pain score) در هر مقطع زمانی ثبت شد. ثبت داده ها تا ۶۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین ادامه یافت. میانگین نمره درد در هر بلوک طبق فرمول درد محاسبه شد (۱۷). در کلیه گروه ها زمان (۵-۰) دقیقه به عنوان مرحله حاد و زمان (۶۰-۱۶) دقیقه به عنوان مرحله مزمن در نظر گرفته شد.

به دلیل وجود بیش از دو گروه برای مقایسه ابتدا آزمون نرمال بودن مشاهدات صورت گرفت، برای داده های هر دو جدول درد حاد و مزمن آزمون نرمالیتی بوسیله آزمون تست نرمال روی سری باقی مانده های مدل بوسیله نرم افزار Minitab انجام گرفت.

با توجه به آزمون Anderson-Darling Normality Test که بوسیله نرم افزار انجام گرفت مقدار داده ها در درد حاد از توزیع نرمال تبعیت می کند. داده هادر درد مزمن از توزیع نرمال تبعیت نمی کرد و بر اساس نتایج این آزمون از آنالیز واریانس پارامتری و ناپارامتری مناسب استفاده شد. نتایج بین گروه های تجربی و کنترل با استفاده از آزمون آنالیز t-test تجزیه و تحلیل گردید.

یافته ها:

بر اساس نتایج بدست آمده، عصاره آبی-الکلی برگ گیاه پونه با مقادیر ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ mg/kg باعث کاهش معنی دار نمره درد ($P < 0.05$) در مرحله درد حاد (۵-۰ دقیقه) آزمون فرمالین در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد شد (نمودار شماره ۱).

آمده را درون فر قرار دادیم دمای فر ۵۰ درجه سانتیگراد بود تا خشک گردد و یک ماده خشک بر جای بماند. در مرحله بعد مقادیر مورد نظر در آب مقطر حل شد و غلظت های مختلف جهت تجویز درون صفاقی به حیوان مورد آزمایش بدست آمد (۱۳).

حیوانات مورد آزمایش به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. بررسی اثر ضد دردی توسط تست فرمالین صورت گرفت. محفظه آزمون فرمالین از یک محفظه شفاف از جنس پلکسی گلاس با ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی متر تشکیل شده است که در زیر این محفظه آینه ای با زاویه ۴۵ درجه قرار دارد تا وضعیت کف پای حیوان کاملاً مشخص باشد. لازم به ذکر است آزمون فرمالین یک مدل معتبر و قابل اعتماد برای ارزیابی ضد دردی است و حساسیت مناسب را برای اثرات ضد درد بسیاری از گروه های دارویی دارا است. در این آزمون یک پاسخ دو مرحله ای مشخص ظاهر می شود، عوامل ضد درد مختلف ممکن است در مرحله حاد و مزمن به صورت کاملاً متفاوتی عمل نمایند، بنابراین آزمون می تواند برای مشخص شدن مکانیسم احتمالی ضد دردی عامل مورد مطالعه، به کار رود (۱۴). هر حیوان تنها یک بار مورد آزمایش قرار گرفت. یک ساعت بعد از تجویز عصاره با مقادیر ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ mg/kg در گروه های آزمون و آب مقطر در گروه شاهد به صورت تزریق داخل صفاقی میزان ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد به کف پای راست حیوان تزریق گردید و بلافاصله در محفظه آزمایش قرار داده شد (۱۵). به گروه کنترل فقط فرمالین تزریق و هیچ داروی دیگری دریافت نکردند. پاسخ رفتاری درد به کمک آینه ای که با زاویه ۴۵ درجه نسبت به سطح افقی در زیر محفظه تعبیه شده بود مشاهده و هر ۱۵ ثانیه یک بار پاسخ حرکتی درد به صورت عدد ۰، ۱، ۲ و ۳ مطابق روش (Dennis, Dubuisson) به شرح زیر ثبت گردید (۱۶).

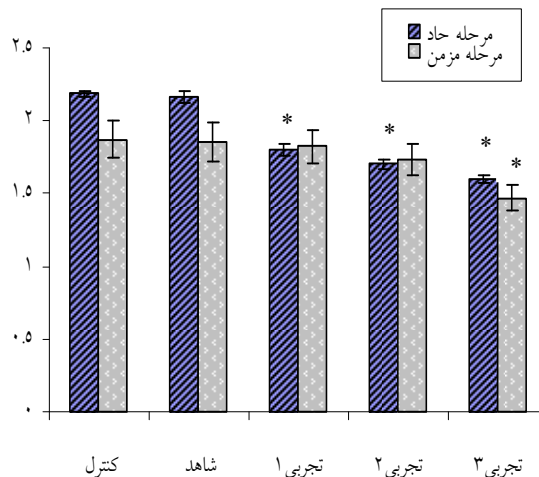
عدد صفر، در مواردی که حیوان هنگام راه رفتن تعادل کامل داشت و وزنش روی هر دو پا توزیع شده بود.

در هنگام درد مزمن سلول های میکروگلیا آزاد سازی کاتپسین S (CatS) (Cathepsin S) را فعال می کند. سپس FKN (Chemokine fractalkine kinases phosphate) محلول (sFKN) از نورون ها آزاد می شود، با گیرنده های CX3CR1 (Chemokine(c-x₃-c'motif)receptor1) روی میکروگلیا اثر متقابلی ایجاد می کند و مسیر p38 MAPK (Mitogen-activated protein) فعال شده و باعث آزاد سازی واسطه گره های التهابی می گردد. میانجی های التهابی به گیرنده های خود در سطح نورون ها متصل می شوند در نتیجه همه این موارد درد ایجاد می شود (۱۸). درد مرحله مزمن توسط داروهای ضد التهابی مهار می شود (۱۵).

مطالعات سایر محققان نشان می دهد عصاره گیاه پونه حاوی هسپریدین و دیوسمین است (۷). هسپریدین (۱۹) و دیوسمین (۱۴) نوعی فلاونوئید است. حضور هسپریدین باعث مهار فسفولیپاز A₂، لیپواکسیژناز و سیکلواکسیژناز می شود که به طور مستقیم بر سنتز پروستاگلندین ها اثر می گذارند (۲۰) و اثرات ضد دردی ایجاد می کنند. فلاونوئیدها یکی از مهار کننده های آنزیم سنتز کننده نیتریک اکساید به شمار می روند و مانع تولید NO می شود که به دنبال تزریق فرمالین افزایش می یابد (۱۵). مطالعات نشان داده فلاونوئیدها با مهار فعالیت گیرنده های N-متیل -D-آسپاراتات سبب کاهش کلسیم داخل سلولی می شوند و به دنبال آن فعالیت آنزیم سنتز کننده نیتریک اکساید و فسفولیپاز A₂ وابسته به کلسیم کاهش می یابد، با کاهش NO و پروستاگلندین ها اثرات ضد دردی ظاهر می شود (۲۱). همچنین تحقیقات نشان می دهد فلاونوئیدها از طریق سیستم اپیویدی و سیستم آدرنرژیکی نیز می توانند در تعدیل درد دخالت کنند (۲۲).

پونه همچنین دارای ترکیبات دیگری نظیر منتون (۸)، تانن، منتول (۹) نیز می باشد. مطالعات نشان می دهد منتول دارای گیرنده اختصاصی در غشای سلول است (۲۳) که منجر به کاهش جریان رو به

نتایج بدست آمده در بررسی اثرات ضد دردی عصاره آبی-الکلی برگ گیاه پونه در مرحله درد مزمن (۶۰-۱۶ دقیقه) نشان می دهد عصاره آبی-الکلی برگ گیاه پونه در دوز حداکثر یعنی ۱۶۰۰ mg/kg باعث کاهش معنی دار درد در مقایسه با گروه کنترل و شاهد می شود ($P < 0.05$) (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: مقایسه نمره درد در مرحله حاد و مزمن
اساس تست فرمالین در گروه های مورد بررسی.
* $P < 0.05$ نسبت به گروه شاهد و کنترل

شاهد: دریافت کننده آب مقطر

تجربی ۱: دریافت کننده ۴۰۰ mg/kg عصاره گیاه پونه

تجربی ۲: دریافت کننده ۸۰۰ mg/kg عصاره گیاه پونه

تجربی ۳: دریافت کننده ۱۶۰۰ mg/kg عصاره گیاه پونه

بحث:

در این تحقیق با استفاده از آزمون تست فرمالین، اثرات ضد دردی عصاره آبی-الکلی برگ گیاه پونه در موش صحرایی نر مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد تزریق داخل صفاقی عصاره آبی-الکلی برگ گیاه پونه دارای اثرات ضد دردی می باشد. بر اساس یافته های حاصل از این تحقیق عصاره آبی-الکلی برگ گیاه پونه درد مرحله حاد آزمون فرمالین را درمقایسه با درد مزمن بیشتر کاهش می دهد. به نظر می رسد مرحله حاد درد ناشی از تزریق فرمالین و با تحریک مستقیم گیرنده های درد و فعالیت فیبرهای عصبی نوع C در ارتباط باشد (۱۶).

نتیجه گیری:

بر اساس یافته های حاصل از این تحقیق عصاره آبی- الکلی برگ گیاه پونه درد مرحله حاد آزمون فرمالین را در مقایسه با درد مرحله مزمن بیشتر کاهش می دهد و با توجه به مطالعات سایر محققان به نظر می رسد اثرات ضد دردی عصاره آبی- الکلی برگ گیاه پونه را بتوان به فلاونوئیدها (هسپریدین و دیوسمین) و منتول موجود در گیاه نسبت داد، به طوری که تجویز این دارو در فاصله زمانی کوتاه به حیوان باعث می شود حیوان را در وضعیت بی دردی قرار دهد.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از زحمات جناب آقای احمد پیشگر مدیریت محترم آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون و مسئول بخش پرورش حیوانات جناب آقای محمد باقر محمودپور تشکر و سپاسگزاری می شود.

داخل سلولی در حالت استراحت شده و آستانه تحریک سلول ها را افزایش می دهد (۲۴). با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و مطالعات سایر محققان احتمالاً عصاره آبی- الکلی برگ گیاه پونه از طریق اثر بر روی کانال های کلسیمی موجود در غشای سلول های عصبی، به ویژه نرون های مسیر درد، جریان کلسیمی رو به داخل سلول را کاهش داده و تحریک پذیری و میزان انتقال سیناپسی را مهار می کند و منجر به کاهش احساس درد می شود.

با توجه به تاثیر منتول بر روی رستپورهای Kappa-opioid احتمالاً منتول موجود در عصاره آبی- الکلی برگ گیاه پونه روی این رستپورها تاثیر می گذارد و بدین طریق، جریان و انتقال سیگنال درد را مهار و بلوک می کند و منجر به کاهش احساس درد می شود (۲۵)، هر چند مطالعات بیشتری در زمینه شناخت ترکیبات ضد دردی موثر گیاه لازم است.

منابع:

1. Andrew chevalier MH. The Encyclopedia of medicinal plant. London: Dorling. Kindersley; 1996. p: 171.
2. Lanni C, Becker EL. Inhibition of neutrophil phospholipase A₂ by p-bromophenylacetyl bromide, nordihydroguaiaretic acid, 5,8,11,14-eicosatetraenoic acid and quercetin. Int Arch Allergy Appl Immunol. 1985; 76(3): 214-7.
3. Elisabetsky E, Amador TA, Albuquerque RR, Nunes DS, Carvalho Ado C. Analgesic activity of Psychotria colorata (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg. alkaloids. J Ethnopharmacol. 1995 Oct; 48(2): 77-83.
4. Pourmotabbed A, Rostamian B, Manouchehri G, Pirzadeh-Jahromi G, Sahraei H, Ghoshooni H, et al. Effects of Papaver rhoeas extract on the expression and development of morphine-dependence in mice. J Ethnopharmacol. 2004 Dec; 95(2-3): 431-5.
5. Shahidivagheidahande F. [Study of phytochemical and antimicrobial effects of menthe pulegium, thesis Pharm, Tehran Univ Med Sci. Number 2458. 1987; 3-4.] Persian
6. Ghahraman A. [Iranian chromophytes. 1st ed. Tehran: University Press Center. 1993; 668-769.] Persian
7. Duke J. Hedeoma pulegioides: CRC handbook of medicinal herbs. Boca Raton, FL: CRC Press Inc. 1989; p: 223-308.
8. Newall CA, Phillipson JD. Herbal medicines: a guide for Health-care Professionals. London: The Pharmaceutical Press. 1996; p: 96.
9. Lawless J. Pennyroyal: the illustrated encyclopedia of essential oils. Rockport, MA: Element Books Inc. 1995; p: 176.

10. Low T. Pennyroyal: magic and medicine of plants. Reader's Digest. Australia: Landsowne Pub. 1994; p: 278.
11. Faraj Zadeh Sheikh A, Zahedi Asl S. [The effect of *Mentha Pulegium* on peristaltic contractions of isolated rabbit duodenum and ileum Scientific Medical J of Ahwaz Univ of Med Sci. 1990; 11: 82-93.]Persian
12. Shirazi FH, Ahmadi N, Kamali Nejad M. [Evaluation of northern Iran *Mentha Pulegium* L. cytotoxicity Daru. J of Faculty of Pharmacy Tehran Univ of Med Sci. 2004; 3(12): 106-10.]Persian
13. Germanò MP, D'Angelo V, Sanogo R, Catania S, Alma R, De Pasquale R, et al. Hepatoprotective and antibacterial effects of extracts from *Trichilia emetica* Vahl. (Meliaceae). J Ethnopharmacol. 2005 Jan; 96(1-2): 227-32.
14. Crespo ME, Gálvez J, Cruz T, Ocete MA, Zarzuelo A. Anti-inflammatory activity of diosmin and hesperidin in rat colitis induced by TNBS. Planta Med. 1999 Oct; 65(7): 651-3.
15. Toker G, Kupeli E, Memisoglu M, Yesilada E. Flavonoids with antinociceptive and anti-inflammatory activities from the leaves of *Tilia argentea* (silver linden). J Ethnopharmacol. 2004 Dec; 95(2-3): 393-7.
16. Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain. 1977 Dec; 4(2): 161-74.
17. Barr GA, Limon E, Luthmann RA, Barr GA, Cheng J. Wang Analgesia induced by local plantar injections of opiates in the formalin test in infant rats. Dev Psychobiol. 2003 Mar; 42(2): 111-22.
18. Luongo L, Sajic M, Grist J, Clark AK, Maione S, Malcangio M. Spinal changes associated with mechanical hypersensitivity in a model of Guillain-Barre syndrome. Neurosci Lett. 2008 May; 437(2): 98-102.
19. Hirata A, Murakami Y, Shoji M, Kadoma Y, Fujisawa S. Kinetics of radical-scavenging activity of hesperetin and hesperidin and their inhibitory activity on COX-2 expression. Anticancer Res. 2005 Sep-Oct; 25(5): 3367-74.
20. Alcaraz MJ, Hoult JR. Actions of flavonoids and the novel anti-inflammatory flavone, hypolaetin-8-glucoside, on prostaglandin biosynthesis and inactivation. Biochem Pharmacol. 1985 Jul; 34(14): 2477-82.
21. Rang HO, Date MM, Ritter JM. Text book of pharmacology. 3rd ed. NewYork: Churchill Livingstone; 1999. 148-76, 609-33.
22. Anjaneyulu M, Chopra K. Quercetin, a bioflavonoid, attenuates thermal hyperalgesia in a mouse model of diabetic neuropathic pain. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2003 Sep; 27(6): 1001-5.
23. Wright CE, Bowen WP, Grattan TJ, Morice AH. Identification of the L-menthol binding site in guinea-pig lung membranes. Br J Pharmacol. 1998 Feb; 123(3): 481-6.
24. Okazawa M, Terauchi T, Shiraki T, Matsumura K, Kobayashi S. Menthol-induced $[Ca^{2+}]_i$ increase and impulses in cultured sensory neurons. Neuroreport. 2000 Jul; 11(10): 2151-5.
25. Tavakoli M, Sedaghat M. [Pharmaceutical plants. Tehran: Roozbehan Pub; 1992. p: 50-150.]Persian

